

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	Bogahawaththe Rajalage Sudarma Bogahawaththa
審査委員	主査 佐賀 大学 准教授 辻田 忠志
	副査 佐賀 大学 教授 光武 進
	副査 鹿児島 大学 准教授 宮田 健
	副査 佐賀 大学 教授 石丸 幹二
	副査 鹿児島 大学 助教 坂尾 こず枝
審査協力者	
実施年月日	令和 5年 8月18日

試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)

口答・筆答

主査及び副査は、令和5年8月18日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏 名	Bogahawaththe Ralalage Sudarma Bogahawaththa
<p>[質問1] 研究対象の <i>Osbeckia octandra</i> は常食するハーブか？ラットで効果が観察された500 mg/kg body weightに換算すればどのぐらいの量をヒトにおいて摂取する必要があるか？</p> <p>[回答1] <i>Osbeckia</i> は毎日食用せず、肝疾患や、デングウイルス感染による黄疸症状を改善・治療する時のみに食用される。摂取量は体重60 kgのヒト換算で、4.2 gとなり、スープ状で摂取しうるので、現実的な量である。</p> <p>[質問2] 肝疾患の進行を考えると脂肪肝、線維化と段階が進むが、比較的、後段階の肝線維症の予防を対象としたのはなぜか？</p> <p>[回答2] 線維化は、肝臓のみならず腎臓や肺などでも見られ、慢性化すると不可逆となり、予防・治療が難しくなる。ラットの実験から <i>Osbeckia</i> の投与によって、肝線維化の進行を顕著に予防できたので研究対象とした。数少ない線維化効果を持つ食品やその成分を見出すことは波及効果が高いと考えた。</p> <p>[質問3] <i>Osbeckia</i> は肝線維症に対して、予防および治療効果を持つとされているが、同様の分子メカニズムを想定しているのか？</p> <p>[回答3] 線維化予防の主要な経路として、TGF-βの抑制がある。今回単離した <i>Osbeckia</i> の機能性成分、Pedunculagin (PDN)、Casuarinin (CSU) および没食子酸 (GA) においてTGF-βの遺伝子およびタンパク質レベルでの抑制が見られた。すなわち、TGF-βより上流の作用点について今後明確にする必要があるが、これは今後の研究課題である。</p> <p>[質問4] 熱水抽出物(BLE) とソニケーション抽出物(SLE) においてHPLCで抽出物の組成パターンを比較検討しましたか？</p> <p>[回答4] BLEはスリランカで摂取されるときに準じて、20分ほど煮たものを初期サンプルとして使用した。SLEは想定していたよりラット摂取実験ではBLEよりも効果が低かったことから比較はしていない。PDNやCSUを指標として、比較検証を進め最も効率的な抽出法を確立する参考にしたい。</p> <p>[質問5] <i>Osbeckia</i> からPDN、CSU、GAの3種を機能性成分として同定したが、これらはそのまま細胞や生体に作用するのか？代謝されるとしたらどの部分が活性を持つと考えられるか？</p> <p>[回答5] CSUからGAとビフェニル体が生成し、またPDNからもビフェニル体が遊離する。ビフェニル体は、エラグ酸や各種ビフェニル誘導体に変換される。これらGAやビフェニル誘導体が機能性を発揮すると考えられる。ラットへの経口投与実験に於ける血中成分と、細胞培養の培地中の代謝物については検証していない。代謝物を明確にすることは、受容体の同定にも直結するので、今後検証する。</p> <p>[質問6] PDNのHPLC分析で2つのピークが出ているがなぜか？</p> <p>[回答6] 既報からこの二つのピークはPDNの$\alpha\beta$異性体であるとした。熱水処理などでこのフォームの生成を制御できるのかについては検討したが、同様に出てくるようである。機能性については同じと考えている。</p>	

〔質問7〕抑制性SMADのSMAD7が発現上昇するメカニズムについてどう考えているのか？通常はTGF- β のフィードバックレスポンスとして発現上昇するはずであるが。

〔回答7〕TGF- β が下がっているのに、SMAD7が上昇するのは、TGF- β シグナルが強力に抑制される。残念ながら、今回はこの制御メカニズムについては調べられていない。

〔質問8〕今回は肝星細胞LX-2を用いることで、抗線維化能を持つ物質を同定することができたが、肝実質細胞に対する効果はどうか？

〔回答8〕肝実質細胞や初代肝細胞を用いて、*Osbeckia*の機能性成分の同定を試みたが、TGF- β の抑制などは微小で多検体を検証するには困難があった。今回LX-2を採用したのは、TGF- β の抑制効果が非常に強く観察でき、形態的にも明確に判明したからである。LX-2の線維化モデルを導入できたことは本研究が成功した最も重要な要因である。

〔質問9〕HUVECを用いた血管新生モデルを採用した意図は何か？

〔回答9〕当初、肝線維化とともに肝がんに対する効果もあるのではないかと考えていた。すなわちがん形成における栄養供給のための血管新生を阻害するののかについて検証している。この結果は*Osbeckia*混合物の作用であるので、今後はPDN、CSU等などについても検証する必要がある。

〔質問10〕実用化を視野に入れると、CLSやBLEもしくはPDN、CSUの何を選択し、どのように活用するのがいいと考えているか？

〔回答10〕CLSやBLEの場合、食用経験も豊富であり、PDNやCSU以外にも効果を持つ成分があると考えられるので、機能性食品としておかゆ状にして摂取するのがいいと考える。ただし、スリランカ固有の植物であることから、輸出入が厳しく制限されているので、この点をクリアする必要がある。一方で、PDNやCSUについてはざくろや赤ワイン等にも含まれるので、高含有植物から抽出して利用することが効果的と考えている。現時点では医薬品にするのは難しいと考えている。

〔質問11〕TAAによる肝疾患誘導の実態はROSということだが、ただ単にROSを抑制すれば肝疾患は治るのではないか？

〔回答11〕ROS消去のみでは解決できないと考えている。TAAはいわば、外来的なROS誘導剤であり、あくまで外的障害を誘導するものである。線維化はその障害を治癒するためのメカニズムであり、線維化誘導はROSだけでは達成できない。事実LX-2にROS誘導剤を添加しても線維化は誘導できない。確かに、PDN、CSU処理でROSの産生を抑制できているが、当研究室で取り組んでいるNrf2経路などを含めた検証を進めている最中である。